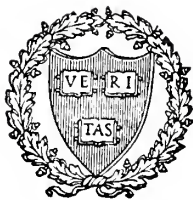


J

54.1



3 2044 105 174 510



HARVARD UNIVERSITY

LIBRARY

OF THE

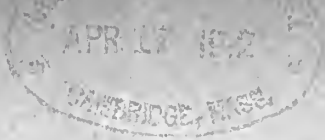
GRAY HERBARIUM

Digitized by the Internet Archive  
in 2015



APR 29 1924

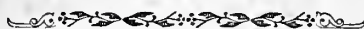
63.295



TRANSFERRED TO  
MUSEUM OF COMPARATIVE ZOOLOGY

# 東北帝國大學農科大學紀要

第四卷 第六號



THE

JOURNAL

OF THE

COLLEGE OF AGRICULTURE,

CAMBRIDGE, MASS.

TOHOKU IMPERIAL UNIVERSITY,

SAPPORO, JAPAN.

---

VOL. IV. PART VI.

---

東北帝國大學農科大學印行

明治四十四年十二月

SAPPORO.

DECEMBER, 1911.

Y848811  
Y803601X1200.2013  
62115-20018013A3

APR 29 1924

## On the Carbohydrate Group in Yam Mucin.

By

K. Oshima and T. Tadokoro.

---

Two kinds of yams, *Dioscorea Batatas* Dene. and *Dioscorea japonica* Thunb., are in common use in Japan as an article of food. They yield a mucilaginous substance when crushed or grated and extracted with water. The chemical nature of this slime was, for the first time, studied by J. Ishii<sup>1)</sup>. According to him, the slimy matter which is precipitated from its solution by dilute acetic acid, shows characteristic reactions for protein including that of Molisch and yields a reducing substance on boiling for some time with 5% sulphuric acid. Basing chiefly upon these reactions and its ultimate composition<sup>2)</sup>, Ishii concluded that the slime belongs to the class of mucins. As he, however, made no detailed study<sup>3)</sup> concerning the presence of a carbohydrate group in his preparation, its relation to the true mucins remains yet to be solved<sup>4)</sup>.

---

1) Bull. Coll. Agric., Imp. Univ. Tokyo, 2, pp. 97—100.

2) Ishii, l. c. The purified preparation had the following composition: C 52.82, H 7.53, N 14.20, O & S 25.05 and ash 0.41.

3) Too much importance can not be laid upon the Molisch's reaction, as it is known to be too delicate a reaction to be accepted as conclusive evidence of a carbohydrate group in the protein molecule. Cf. T. B. Osborne and J. H. Harris—*The carbohydrate group in the protein molecule*—Jour. Amer. Chem. Soc., 25 (1903), pp. 476—478. That the copper reducing property of the hydrolysis product does not give any clue as to the nature of the reducing substance needs no comment.

4) Cf. T. B. Osborne—*Die Pflanzen Proteine* (Sonderabdruck aus: Asher u. Spiro—*Ergebnisse der Physiol.*, 10 (1910), p. 214.

Mucins<sup>1)</sup> are characterized as compounds of the protein molecule with a substance or substances containing a carbohydrate group. The carbohydrate has been identified with glucosamin (chitosamin)<sup>2)</sup>.

As the occurrence of mucin in the vegetable kingdom has not yet been fully demonstrated, it seemed to us of great interest, to investigate whether or not the glucosamin group is present in the yam mucin and thereby elucidate its true nature.

As the material of our study, the tubers of *Dioscorea Batatas* Dene. were taken and prepared in a manner essentially the same as that followed by Ishii (l. c.), with but slight modifications as our experience suggested. The tubers were grated as thoroughly as possible and then allowed to stand for several hours when starch granules and other substances settled at the bottom of the vessel.

The thick liquid thus obtained was strongly acid in reaction. It was filtered first through linen cloth, then through filter paper, without suction. The last precaution is necessary, as otherwise some of the starch granules may pass through the filter. The starch was always tested with iodine solution under microscope. The starch-free filtrate was carefully acidified with dilute acetic acid until the concentration of the acid reached to 0.5–1% of the liquid, when a flocculent precipitate was formed in abundance. After standing over night, the clear supernatant liquid was decanted, the precipitate transferred to a filter, and washed well first with 1% acetic acid, then with dilute hydrochloric acid to remove any adhering protein which might be soluble in it, then with a mixture of alcohol and ether and finally with ether alone. When dried in vacuum over sulphuric acid, a yellowish amorphous mass was obtained. About 4.5 grams of the preparation were thus procured

---

1) Under mucins we include both true mucins and paramucins, the latter as distinguished from the former, chiefly in the property of not being precipitated from its solution by acetic acid. Cf. Röhm ann Biochemie, Berlin, 1908, p. 702.

2) Fr. Müller—Zs. f. Biol., 42 (1901), pp. 468–564.

J. Seemann—Inaug. Diss. Marburg, 1898; Chem. Centr., 1898 II, p. 1271.

C. Neuberg u. F. Heymann—Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol., 2 (1902), p. 201.

H. Steudel—Hoppe-Seylers Zs. physiol. Chem. Strassburg, 34 (1902), pp. 353–384.

A. Oswald—Hoppe-Seylers Zs. physiol. Chem. Strassburg, 68 (1910), pp. 173–180.



from 1 kilogram of the fresh tuber.

### Qualitative Reactions.

The preparation obtained in the above described manner showed the following qualitative reactions.

1) It dissolves easily in caustic alkali of about 5% ; in weaker solutions it dissolves with difficulty.

2) It dissolves in strong mineral acids as well as in strong acetic acid.

3) It gives xanthoprotein, biuret, Adamkiewicz's and Millon's reactions but not Liebermann's.

4) Tannin precipitates its solution, while double iodide of potassium and mercury produces a turbidity.

5) The distillate of the substance with hydrochloric acid, 1.06 sp. gr., gives no furfural reaction with either anilin acetate or phloroglucin solution.

6) On boiling for some time with 5% sulphuric acid, it yields not only the substance which gives biuret reaction but also such as reduce Fehling's solution. The reducing power is still observed even after the hydrolysis product is treated with phosphotungstic acid in the usual manner.

7) It possesses a weak diastatic power, evidently due to the enzyme admixed with it. Reactions for other enzymes were also tested, but with negative results<sup>1)</sup>.

### Identification of Glucosamin.

For the identification of glucosamin in the cleavage products of protein bodies, four methods have been proposed, namely: benzoate method of Fr.

---

1) As the preparation had diastatic power, our interest was naturally aroused to the study of enzymes in yam tubers. Water extract was made in the manner already described and in it the following enzymes were identified:

A) **Diastase**; B) **Oxidase**; C) **Catalase**.

The detailed report is expected to be published in the near future by one of us.

Müller<sup>1)</sup>, phenylisocyanate method of H. Stendel<sup>2)</sup>, oxidation method (norisaccharic acid) of Neuberg-Wolff<sup>3)</sup> and the direct method of A. Oswald.<sup>4)</sup> Of these, the last method by Oswald is simplest and allows, at the same time, the direct identification of glucosamin as such. We have therefore attempted to detect glucosamin in the hydrolysis product of the yam mucin according to Oswald's method.

6 grams of the dry preparation were mixed with 240 c.c. of 3% hydrochloric acid and heated in a water bath for 10 hours, with a reflux condenser. The dark brown liquid was filtered, concentrated slowly on a water bath to a syrup and then kept over sulphuric acid. No characteristic crystals of glucosamin hydrochloride appeared even after standing for several weeks. The syrup, however, gave Molisch's reaction as well as biuret reaction very strongly. Our failure to obtain glucosamin hydrochloride was evidently due to the lack of favorable conditions for its separation.

We have therefore tried to isolate it as osazone from the syrup. The syrup was diluted with water and precipitated with phosphotungstic acid in the usual manner. The neutralized syrup was heated with 2 parts of phenylhydrazin hydrochloride and 3 parts of sodium acetate in a water bath for 1½ hours. Characteristic crystals of phenylglucosazone appeared, which when cold was filtered and recrystallized from 60% alcohol. The melting point of the osazone was determined and found to be 203°. Consequently it is probable, if not conclusive, that the syrup contained glucosamin.

Having failed with Oswald's method, we had attempted to identify glucosamin with Neuberg-Wolff's method in the following manner.

30 grams of the preparation were mixed with 40 c.c. of fuming hydrobromic acid, sp. gr. 1.49, and allowed to stand for 2 hours in cold with frequent shaking. At the end of this time, when the whole mass appeared to have been gelatinized, it was diluted with 200 c.c. of water and heated gently in a water bath for 1¾ hours with a reflux condenser. The dark

---

1) Zs. f. Biol., 42 (1901), pp. 468—564.

2) Hoppe-Seylers Zs. physiol. Chem. Strassburg, 34 (1902), pp. 353—384.

3) Ber. D. chem. Ges., Berlin, 34 (1901), pp. 3840—3846.

4) Hoppe-Seylers Zs. physiol. Chem. Strassburg, 68 (1910), pp. 173—180.

brown liquid was filtered and the filtrate was decolorized with animal charcoal. The clear yellowish liquid thus obtained reduced Fehling's solution very strongly. The amount of free hydrobromic acid in the solution was then determined by titration against decinormal alkali solution and about  $4/5$  of the calculated amount of lead carbonate necessary to neutralize it were added, under strong agitation. After 2 hours standing, the lead bromide was sucked out and the filtrate was concentrated in vacuum under  $40^{\circ}$ , until nearly all of the remaining hydrobromic acid was driven out. The brownish syrup obtained was boiled with 100 c.c. of 96% alcohol and filtered; the residue was moistened with a little warm water and again extracted with alcohol. This process was repeated several times, until the reducing substance could no longer be detected in the alcoholic extract. The extracts were united, the precipitates formed on standing (chiefly lead bromide) filtered off and then concentrated to a syrup. The syrup was dissolved in 30 c.c. of nitric acid, sp. gr. 1.2, and heated on a water bath until red fumes came off. It was then allowed to cool, 10 c.c. of nitric acid were added and concentrated to a small volume, with constant stirring. About 50 c.c. of water were then added and again evaporated to drive out the nitric acid. Finally the syrup was dissolved in 100 c.c. of water, decolorized with animal charcoal and freed from the remaining hydrobromic acid by the careful use of silver nitrate. The filtrate from silver bromide was exactly neutralized with ammonia and then acidified with a few drops of very dilute acetic acid. Calcium acetate was then added drop by drop to precipitate oxalic acid, neutralized again with ammonia and boiled with concentrated lead acetate solution. When cold the lead precipitates were separated by filtration with suction and washed well with cold water. The precipitates were suspended in 120 c.c. of water and decomposed thoroughly with hydrogen sulphide. The excess of hydrogen sulphide was driven off by boiling the solution, and the filtrate was concentrated on a water bath. The solution thus obtained should contain norisosccharic acid produced by oxidation of glucosamin, if it were present. To the hot aqueous solution of norisosccharic acid, an excess of cinchonin was added until its reaction was distinctly alkaline. When cold it was filtered and the filtrate treated in a separating funnel with acetic ether to extract the free

cinchonin remaining in solution. The watery solution was then concentrated to a syrup. On cooling, the crystals of cinchonin salt began to show themselves in the syrup. After 24 hours standing, the crystalline mass was mixed with about 3 c.c. of water, filtered and washed with a little cold water. Colorless needle shaped crystals were obtained, upon recrystallization from hot water, using animal charcoal. Its yield was 0.55 gram. The melting point was found to be 208–209°. The specific rotatory power as determined by Schmidt and Haensch half shadow apparatus was as follows:—

$$[\alpha]_D = \frac{2.1 \times 0.346 \times 25}{0.1017 \times 1} = +177.1^\circ.$$

0.1934 gm. substance dried at 105° gave 1.321 mg. N.

Calculated for  $C_6H_{10}O_8(C_{19}H_{22}N_2O)_2 \cdot N$  7.02%

Found.....=N 6.89%

The observed physical constants and analysis clearly indicate that the substance under examination is cinchonin norisosccharate. The presence of glucosamin group in the yam mucin is hereby fully demonstrated.

### Hydrolysis of the Residue.

The hydrolysis products of the protein group of true mucius have received but little attention, owing no doubt chiefly to the difficulty of obtaining sufficient material for the investigation. As a larger portion of the yam mucin used for the separation of glucosamin by hydrobromic acid, in the previous experiment, remained apparently not much affected, we have undertaken to utilize this residue and study the nature of its cleavage products.

The residue, after being dried at a low temperature to drive off the remaining hydrobromic acid, was hydrolyzed by heating with 50 c.c. of 25% sulphuric acid, first in a water bath for 2 hours and then on a sand bath for 12 hours. On cooling, the hydrolysis solution was diluted with 100 c.c. of water, filtered and the filtrate neutralized with baryta. The barium sulphate which separated was sucked out and washed thoroughly by repeatedly boiling

with water. The filtrate was decolorized with animal charcoal and concentrated to crystallization. When the syrup was kept over sulphuric acid for some time, tyrosin began to crystallize in characteristic delicate silky needles. It gave a beautiful red color with diazobenzenesulphonic acid in the presence of sodium hydroxide. The tyrosin crystals were separated by filtration and the filtrate kept again over sulphuric acid. Three crops of tyrosin mixed with leucin or of leucin alone were obtained in succession. For the separation of leucin from the mixture, boiling acetic acid was used.

Glutaminic acid hydrochloride was separated by saturating the mother-liquor from leucin, with hydrochloric acid gas and allowing it to stand in an ice box for several days. The yields of the amino-acids follow:

Tyrosin 0.41 gram; leucin 0.25 gram; and glutaminic acid hydrochloride 0.12 gram.

Further purification was not attempted because of their small amounts. They gave following results on analysis.

0.1504 gm. tyrosin gave 0.3311 gm.  $\text{CO}_2$  and 0.0895 gm.  $\text{H}_2\text{O}$ .

Calculated for  $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}=\text{C}$  59.66; H 6.07 %

Found ..... = C 60.04; H 6.61 %

0.1450 gm. leucin gave 0.2875 gm.  $\text{CO}_2$  and 0.1305 gm.  $\text{H}_2\text{O}$ .

Calculated for  $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N}=\text{C}$  54.96; H 9.92 %

Found ..... = C 54.06; H 9.80 %

0.1 gm. glutaminic acid hydrochloride gave 0.1201 gm.  $\text{CO}_2$  and 0.0481 gm.  $\text{H}_2\text{O}$ .

Calculated for  $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_4\text{N} \cdot \text{HCl} = \text{C}$  32.69; H 5.45 %

Found ..... = C 32.75; H 5.35 %

The presence of other amino-acids is not excluded but the mother-liquor from the glutaminic acid hydrochloride was too little to be examined further.



# On the Carbohydrates of the Shoots of *Sasa paniculata*.

By

K. Miyake and T. Tadokoro.

---

Bamboo shoots are widely consumed in Japan as an article of food, in spring time. The species of bamboo used in warmer provinces are *Phyllostachys mitis* Riv. and *Phyllostachys Quiloi* Riv.. In northern districts, however, the shoots of *Sasa paniculata* Shibata et Makino are largely used for food.

Investigations on the constituents of bamboo shoots, up to the present time, have been only to show their general composition, except the papers by Kozai<sup>1)</sup> and Tōtani<sup>2)</sup> who studied their non-protein nitrogenous constituents and proved the presence of asparagin, tyrosin, guanin, xanthin, hypoxanthin, adenin, cholin and betain. In regard to the chemical nature of carbohydrates, which compose the greater part of the bamboo shoots no special investigation has been reported. Moreover, the researches which have been made hitherto were exclusively on the shoots of the species of *Phyllostachys* and nothing was known about the shoots of *Sasa paniculata*. Consequently, we selected the *Sasa* shoot for the material of our study and examined its composition, particularly its carbohydrates.

---

1) Bull. Imp. Coll. Agric. and Dendrol., Tokyo, 1 (1890), 7, pp. 37—46.

2) Hoppe-Seyler Zs. physiol. Chem., Strassburg, 62 (1909), pp.113—114; *ibid*, 70 (1911), pp. 388—390.

The results obtained are as follows:

	Fresh substance.	Water-free substance.
	%.	%.
Water	91.35	.....
Ash	1.13	13.06
Protein	2.72	31.49
Fat	0.22	2.54
Crude fiber	1.44	16.68
Nitrogen-free extracts	3.14	36.68
Total nitrogen	0.44	5.04
Non-protein nitrogen	0.13	1.79
Reducing sugar	0.53	6.10
Non-reducing sugar	0.15	1.69
Starch	None	None
Cellulose	1.19	13.71
Lignin	Present	Present
Galactan	None	None
Pentosan	1.77	20.45
Methyl Pentosan	None	None

A general analysis was made of the edible part of the shoots by the Weende method, commonly adopted for food stuff. Sugars, cellulose and pentosan were estimated respectively according to the method of Allihn, König<sup>1)</sup> and Tollens. The absence of starch was determined by a micro-chemical test with iodine solution. The galactan was tested by oxidizing the fat-free sample with nitric acid of 1.15 sp. gr., as in the usual manner, with negative result. The absence of methyl pentosan was confirmed by the method of Oshima and Tollens<sup>2)</sup>.

As will be seen in the above table, the principal constituents of the shoot are carbohydrates, which form about one half of its total dry matter. Among the carbohydrates, pentosan is a prominent substance, its amount

1) Zs. Unters. Nahrungsmittel., Berlin, 12 (1906), pp. 386—395.

2) Ber. D. Chem. Ges., Berlin, 34 (1901), pp. 1425—1426.



attaining to 20.45% of the dry matter. Sugars are present in no slight quantity, reaching the amount of 7.79% of the dry matter. The absence of starch is apparently striking, when compared with the results of Kozai (l. c.), Nagai and Murai<sup>1)</sup> who detected its presence in the shoots of *Phyllostachys*. But it must be remembered that the *Sasa* shoots are generally gathered by breaking off the shoot above the soil and not by digging up, as in the case of other bamboos, and that even in *Phyllostachys* according to Shibata<sup>2)</sup> starch exists only in the lower part of the underground portion of the shoots, in the neighbourhood of the rhizome.

To determine the nature of pentosan and sugar of the *Sasa* shoots, the following investigation was undertaken and will here be described in detail.

### Pentosan of the shoots.

#### (1) Method of hydrolysis.

280 grams of finely pulverized shoots were washed with water and 2% ammonia successively, until the washings in each case were no more colored. Next, the sample was extracted with 10 L. of 5% caustic soda solution for about 48 hours and filtered. After the filtrate was neutralized with hydrochloric acid, a gummy substance was precipitated by the addition of 95% alcohol, and its amount weighed about 30 grams after drying. Then, 500 c.c. of 5% sulphuric acid were added to this substance and heated in a boiling water bath for 20 hours. When cooled, it was filtered through "Nutsche" filter with suction. The yellowish brown filtrate was neutralized with pure calcium carbonate and allowed to stand overnight. On the following morning, the calcium sulphate produced was filtered off by means of suction and the filtrate was concentrated, with the addition of a little calcium carbonate, to about 100 c.c. in a partial vacuum. The warm solution thus obtained was put into a dry flask with 500 c.c. of 85% alcohol and allowed to stand

1) Japan International Health Exhibition. London, 1884, A. Descriptive Catalogue, pp. 3--6.

2) Journ. Coll. Sc. Imp. Univ., Tokyo, 8 (1900), pp. 427--496.

for about 12 hours, when a blackish gummy substance adhered to the sides and bottom of the flask. The fluid was decanted and concentrated again in a partial vacuum to about 80 c.c.. To the remaining syrup, about 500 c.c. of 95% alcohol were added. This produced a second precipitate of a yellowish gummy substance. After standing for a few hours, the clear solution was decanted and concentrated to a small volume in a partial vacuum. The syrup was once more purified by shaking with about 200 c.c. of absolute alcohol. A clear solution was decanted and evaporated down to about 50 c.c..

(2) Qualitative tests of the syrup.

The syrup gave the following reactions:-

- a) It reduced Fehling's solution very strongly.
- b) It rotated the plane of polarization toward the right.
- c) It gave the characteristic absorption-spectrum of pentose with phloroglucin and hydrochloric acid.
- d) Two drops of the syrup were placed on an object glass and were seeded respectively with a crystal of xylose and arabinose. After 36 hours, the drop which had been seeded with xylose showed the formation of new crystals, while that with arabinose remained unchanged.

From the above reactions it is safe to conclude that the syrup contained pentose and that the presence of xylose was highly probable.

(3) Isolation of xylose.

When the purified syrup was left untouched nearly one week, it was found thickly laden with fine crystals. A small amount of 85% alcohol was added to the syrup, well mixed, filtered with suction and washed with absolute alcohol and ether. The sugar thus obtained was slightly yellowish in colour but upon recrystallization from alcohol with the use of animal charcoal, it became perfectly white and left no ash on ignition. The pure air-dry sugar thus obtained was 3 grams in weight.

0.425 gram of the carefully dried sugar was dissolved in water and made up into 25 c.c. and polarized in 100 mm. tube, in Schmidt and Haensch half shadow polariscope. Strong bi-rotation was observed. After 24 hours

the rotation was 0.9 on the scale toward the right. The specific rotatory power is

$$(\alpha)D = \frac{0.9 \times 0.346 \times 25}{0.425 \times 1} = +18.3^\circ \text{ (at } 20^\circ)$$

0.5 gram of the pure dried sugar was mixed with 1. gram of phenylhydrazin hydrochloride, 1.5 grams of sodium acetate and 10 c.c. of water and heated in the boiling water bath for one and a half hours, according to Fischer's method<sup>1)</sup>. The yellowish needle-shaped crystals were produced. After the recrystallization from alcohol, their melting point was found to be 157°.

According to Tollens<sup>2)</sup>, the calculated specific rotatory power of 1.7% xylose solution at 20° is

$$(\alpha)D = 18.095 + 0.06986 p = 18.24^\circ$$

Melting point of xylosephenylosazone, according to Bauer<sup>3)</sup> is 154°, according to Stone and Test<sup>4)</sup> is 158°.

Consequently, the sugar under examination is xylose.

#### (4) Isolation of arabinosebenzylphenylhyprazone.

The mother-liquor filtered off from the crystals of xylose was evaporated to a syrup. It did not show any sign of forming new crystals of its own accord, after one week's standing. Trial was made to induce the formation of crystals by seeding with xylose or arabinose, but the effort was in vain in both cases. An attempt was then made to separate and detect arabinose by the use of benzylphenylhydrazin, according to the method of Ruff and Ollendorf<sup>1)</sup>.

3.5 grams of the syrup were dissolved in 10 grams of 70% alcohol, to which a solution of 2.5 grams of benzylphenylhydrazin in 4.5 grams of absolute alcohol, was added and the mixture well shaken. The fluid soon became turbid and in the course of 6 hours crystalline precipitates were

1) Ber. D. Chem. Ges., Berlin, 17 (1884), pp. 579—584.

2) Hand. d. Kohlenhydrate. II, Breslau, 1895, p. 70.

3) Lippmann:—Chemie d. Zuckerarten. I, Braunschweig, 1904, p. 140.

4) Ber. D. Chem. Ges., Berlin, 32 (1897), pp. 3234—3237.

formed. The crystals were separated by filtration with suction, washed with a small amount of 75% alcohol and finally recrystallized from 95% alcohol. The product obtained in this manner was perfectly white and weighed 0.392 gram when dried over sulphuric acid in vacuum. The melting point was found to be 170° which coincides with that of arabinosebenzylphenylhydrazone.

0.2035 gram of the substance was dissolved in 50 c.c. of methyl alcohol and polarized in a 200 mm. tube. A laevo-rotation of 0.3 on the scale was observed. The specific rotatory power is

$$(\alpha)_D = \frac{0.3 \times 0.346 \times 50}{0.3035 \times 2} = -12.7^\circ \text{ (at } 16^\circ \text{)}$$

The specific rotatory power of arabinosebenzylphenylhydrazone according to van Ekenstein and de Bruyn<sup>1)</sup> is -14.6°, while Brown and Tollens<sup>2)</sup> as well as Oshima<sup>3)</sup> found it to be -12.1°, -12.6°. Consequently, it will be clear that the isolated benzylphenylhydrazone is that of arabinose.

From the above tests, it is evident that in the hydrolysis products of the shoots, both xylose and arabinose are present and consequently, that the pentosan of the shoots is made up of both xylan and araban, which are anhydrous condensation products of the pentoses.

### Sugar of the shoots.

Although the amounts of sugar in bamboo shoots have been given in nearly every analysis hitherto reported, its nature<sup>4)</sup> has been left untouched for future study. With a view of elucidating this phase of the question, the following experiments were undertaken.

500 grams of finely chopped edible portion of the fresh shoots were put into a large flask containing 800 c.c. of 95% alcohol. After standing for a

1) Ber. D. Chem. Ges., Berlin, 29 (1897), Ref. pp. 911—913.

2) *Ibid.*, 35 (1902), pp. 1457—1467.

3) Journ. Sapporo Agric. Coll., Sapporo, 2 (1906), p. 94.

4) Shibata (l.c.) makes mention of glucose but from the nature of the methods followed by him it is not easy to decide whether the sugar under question is glucose or other reducing sugar.

few hours, the content was examined and found to possess an acid reaction. Hence, it was neutralized with ammonia and heated in a boiling water bath for 2 hours, using a reflux-condenser. When cooled, it was filtered and well washed with 95% alcohol. The filtrate was put in a flask and evaporated in a partial vacuum to a small volume. To this concentrated liquid 95% alcohol was added and allowed to stand for about 10 hours, stirring from time to time, when a brownish gummy substance was seen to adhere to the sides and bottom of the flask. The brown coloured transparent fluid was decanted and concentrated again to a syrupy condition in a partial vacuum. The syrup was once more purified by shaking with about 150 c.c. of absolute alcohol. The clear solution was decanted and evaporated down to about 10 c.c..

#### (1) Qualitative tests of the syrup.

The syrup gave the following qualitative reactions:—

- a) It reduced Fehling's solution very strongly; after inversion with hydrochloric acid, the reducing power is much enhanced, showing the presence of both reducing and non-reducing sugar.
- b) Molisch-Udransky reaction was positive.
- c) It did not show any pentose reaction by the phenylglucosin method.
- d) It produced no characteristic mannose phenylhydrazone. When the mixture was warmed in a boiling water bath with acetic acid, the yellowish crystalline osazone was clearly produced.
- e) No mucic acid was produced upon oxidation with nitric acid.
- f) It gave the characteristic fire red colour of ketose with resorcin and hydrochloric acid.

#### (2) Phenyllosazone Tests.

The syrup did not show any sign of forming crystals even after standing one week. An attempt was then made to separate and detect the sugar as phenyllosazone.

- a) 1 gram of the syrup, 2 grams of phenylhydrazin hydrochloride, 3 grams of sodium acetate and 20 c.c. of water were mixed and heated in a

boiling water bath. After 10 minutes yellowish crystals had been produced. At the end of one hour and a half, the heat was removed and the crystals examined under the microscope. None of the other forms, besides the stellate form of yellow fine needle-shaped crystals which coincides with that of phenylglucosazone prepared from pure glucose in our laboratory, was observed. When cooled, it was filtered and washed with a little water. Upon recrystallization from dilute alcohol and drying over sulphuric acid in a vacuum the amount was 0.24 gram. The melting point was determined and found to be  $204^{\circ}$  which coincides with that of phenylglucosazone. Consequently the osazone under question is phenylglucosazone.

b) 1 gram of the syrup was dissolved in 20 c.c. of water and inverted with hydrochloric acid in a boiling water bath for about 30 minutes. After it was neutralized with sodium carbonate, 2 grams of phenylhydrazin hydrochloride and 3 grams of sodium acetate were added and heated in a boiling water bath, exactly in same manner as above described. The yellow crystals had already been produced at the end of 10 minutes. After heating for one hour and a half, the crystals were examined under the microscope, but they were all uniform and quite identical with those of phenylglucosazone which was obtained in the previous experiments. When cooled, it was filtered and washed with a little water. The yellow crystals thus obtained were recrystallized from 60 % alcohol and dried over sulphuric acid in a vacuum. The product weighed 0.3 gram and the melting point was found to be  $204^{\circ}$ . The crystalline form and melting point indicate that the osazone at hand is no other than phenylglucosazone.

Phenylglucosazone may be formed either from glucose, fructose, mannose or sucrose. The presence of mannose is excluded since no characteristic phenylhydrazone could be obtained in the qualitative experiment already mentioned. Maltose if present, will form an osazone of melting point similar to that of glucosazone but it can easily be distinguished from the latter in its crystalline form. From the results of our experiments maltose can hardly be expected to exist. Taking all these facts into consideration we may safely conclude that the reducing sugar consists chiefly of glucose, while the non-reducing sugar is sucrose. As to whether or not the fructose is present as

such or only in combination with glucose molecule in the form of sucrose, we have not sufficient data to decide and the question remains to be solved in future.

### Summary.

- 1) The principal constituents of the shoots are carbohydrates which form about 50 percent of the dry matter.
- 2) The chief carbohydrates of the shoots are pentosan, cellulose and sugar. Galactan, methyl pentosan and starch are not present.
- 3) Pentosan of the shoots is made up of both xylan and araban, the former, however, predominating in amount over the latter.
- 4) Glucose and sucrose seem to compose the principal sugar in the shoots; the former is present in much larger quantity than the latter.

In conclusion, the authors wish to express their hearty thanks to Prof. K. Oshima for the valuable suggestions he has given in carrying out this research.

---





# Ueber die Nicht-Eiweiss-Stickstoff Bestandteile der Schösslinge von *Sasa paniculata*.

Von

**K. Miyake.**



Ueber die Nicht-Eiweiss-Stickstoffbestandteile der Bambusschösslinge liegen bis jetzt nur einige Forschungen vor. Die Untersuchungen von Y. Kozai<sup>1)</sup> führten zu dem Ergebnis, dass ausser dem Tyrosin, das in reichlicher Menge vorhanden ist, auch Asparagin, Guanin, Xanthin und Hypoxanthin in den frischen Bambusschösslingen nachzuweisen sind. Vor kurzem untersuchte auch G. Totani<sup>2)</sup> die basischen Bestandteile der Bambusschösslinge und bewies, dass in denselben Adenin, Cholin und Betain in nachweisbaren Mengen enthalten sind. Diese Autoren beschäftigten sich aber in ihren Forschungen hauptsächlich mit den Schösslingen von *Phyllostachys mitis* Riv., während über die andern Bambus Spezies keine Studien vorliegen. Es erscheint von Interesse, auch diese in den Kreis der Untersuchung zu ziehen. Darunter wählte ich die Schösslinge der *Sasa paniculata* Shibata et Makino, welche in den nördlichen Provinzen in Japan wächst und untersuchte ihre Nicht-Eiweiss-Stickstoffbestandteile. Im folgenden will ich meine Resultate kurz berichten.

---

1) Bull. Imp. Coll. Agric. and Dendrol., Tokyo, 1 (1890), pp. 37—46.

2) Hoppe-Seyler Zs. physiol. Chem., Strassburg, 62 (1909), pp. 113—114; *ibid*, 70 (1911), pp. 388—490.

Die von mir untersuchten Sasaschösslinge hatten folgende quantitative Zusammensetzung:

	In 100 Teilen frischer Substanz	In 100 Teilen trockener Substanz
Wasser	91.35	.....
Asche	3.13	13.66
Protein	2.72	31.49
Fett	0.22	2.54
Roh-Faser	1.44	16.68
Stickstofffreier Extraktstoff	3.14	36.68
Gesamtstickstoff	0.54	5.04
Nicht-Eiweisstickstoff	0.13	1.79

Wie man daraus erschen kann, ist die Menge des Nicht-Eiweisstickstoffs in meiner Probe nicht so gross als die von den Phyllostachyschösslingen, bei welchen nach Y. Kozai (l. c.) der Nicht-Eiweiss-Stickstoff ca. 70% des Gesamtstickstoffes einnimmt.

### Isolierung der Purin Basen.

30 kg der von der Rinde befreiten, fein zerschnittenen und frischen Sasaschösslinge wurden mit Wasser 30 Minuten lang gekocht und unter starkem Druck abgepresst. Der Rückstand wurde noch einmal in derselben Weise behandelt. Die vereinigten Auszüge wurden mit nicht zu viel Bleiessig versetzt, wobei ein dicker Niederschlag entstand und dann nach 24 Stunden abfiltriert. Durch erstmalige Behandlung des Filtrates mit Schwefelsäure wurde das Blei ausgeschieden. Hierauf wurde die Flüssigkeit mit derselben Säure zu ungefähr 5% angesäuert und mit 10% Phosphowolframsäurelösung vollständig gefällt. Die dabei entstandene Phosphowolframsäurefällung wurde nach 24 Stunden abgesaugt, mit 5% Schwefelsäure gewaschen und getrocknet. Der Niederschlag wurde nun in wenig Wasser verteilt und mit Ueberschuss von Baryt verrieben. Das Gemisch wurde öfters umgerührt und 24 Stunden lang stehen gelassen und dann abgesaugt. Der Rückstand

wurde nochmals in Wasser verteilt und mit Baryt verrieben. Diese Operation wurde also zweimal wiederholt. Die vereinigten Filtrate wurden durch Kohlensäure vom überschüssigen Baryt befreit und abfiltriert. Nachdem die Flüssigkeit im Vacuum eingengt worden war, wurde sie ammoniakalisch gemacht und sofort mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt. Der Niederschlag wurde erwärmt, dann wieder erkalten gelassen, filtriert, mit ammonhaltigem Wasser ausgewaschen. Der Niederschlag wurde dann in bekannter Weise mit Salpetersäure (spec. Gew. 1.1) unter Zusatz von Harnstoff auf dem Wasserbad erwärmt und heiss filtriert. Das Filtrat blieb nach Zusatz von etwas Silbernitrat 12 Stunden lang stehen. Die Silberverbindungen wurden abgeschieden und dann abfiltriert.

Die abfiltrierte, salpetersaure Flüssigkeit wurde mit Ammoniak versetzt. Es entstand dabei eine weisse Fällung. Der Niederschlag wurde mit Salzsäure verrieben, vom ausgeschiedenen Silberchlorid abfiltriert, zu Syrup eingedampft und mit absolutem Alkohol behandelt, um den Ueberschuss von Salzsäure zu entfernen. Der Rückstand wurde mit Wasser gemengt und bei der Temperatur von 40° 24 Stunden lang stehen gelassen. Ein Teil ging dabei in Lösung über und hinterliess ein schwach gelblich gefärbtes Pulver, das in kaltem Wasser schwer, in heissem Wasser etwas leichter und in Ammoniak leicht löslich war. Es zeigte die Weidel'sche, sowie die Strecker'sche Reaction, welche für Xanthin charakteristisch sind. Die Ausbeute betrug 0.095 g. Für die Analyse wurde das gereinigte Präparat im Vacuum bei 100° getrocknet.

0.0896 g Substanz gab 0.03288 g N.

N.

$C_5H_4N_4O_2$

Ber.

36.84 %

Gef.

36.69 %

Nach den oben angegebenen Daten war es deutlich, dass das isolierte Pulver Xanthin war.

Die ausgeschiedenen Silberverbindungen wusch ich zunächst zur Entfernung der Salpetersäure mit kaltem Wasser aus, spülte sie dann mit heisser, verdünnter Ammoniakflüssigkeit vom Filter in einen Becher und digerierte sie längere Zeit auf dem Wasserbade. Dadurch wurde die Salpetersäure aus

der Doppelverbindung entfernt und die ursprüngliche Silberoxydverbindung regeneriert. Ich fügte zu dieser Ammoniakflüssigkeit etwas Silbernitrat hinzu, filtrierte nach dem Erkalten und wusch so lang mit kaltem Wasser aus, bis im Filtrat nach Zusatz von Salzsäure nicht die geringste Trübung von Chlorsilber zu bemerken war. Nun wurden die rein weissen Silberverbindungen in Wasser suspendiert und mit Schwefelammonium zersetzt. Aus der vom Schwefelsilber abfiltrierten klaren Flüssigkeit wurde nach Digestion mit Ammoniak auf dem Wasserbad ein Niederschlag abgeschieden. Der Schwefelsilberniederschlag wurde mit verdünnter Salzsäure ausgekocht und abfiltriert. Nach Sättigung dieses Filtrats mit Ammoniak zeigte sich nach einiger Zeit ein Niederschlag. Darauf vereinigte ich beide Niederschläge und trocknete bei  $100^{\circ}$ . Dieses schwach gelbliche Pulver war in Wasser unlöslich und gab die Capranica'sche Guaninreaktion. Die Menge des isolierten Pulvers war nicht so gross. Darum wurde dieses Pulver mit Pikrinsäure zum Pikrat verändert. Die Ausbeute an Pikrat betrug 0.079 g. Das Pikrat war in kaltem Wasser fast unlöslich, orangegelb und seidenglänzend. Es zersetzte sich bei  $190^{\circ}$ . Für die Analyse wurde es im Vacuum bei  $100^{\circ}$  getrocknet.

0.07 g Substanz gab 0.02072 g N.

N.

$C_5H_5N_5O$ .	$C_6H_2(NO_2)_3OH$	Ber.	29.47 %
		Gef.	29.60 %

Gestützt auf den Analysenwert wurde das Pikrat als mit dem Guaninpikrat vollständig identisch erkannt.

Das ammoniakalische Filtrat wurde zur Vertreibung des Ammoniaks auf dem Wasserbade in der Platinsehale zur Trockne eingedampft, der Rückstand in heissem Wasser aufgelöst, wieder eingedampft, und dann mit Wasser gelöst. Zu dieser wässrigen Lösung fügte ich kalte, gesättigte, wässrige Lösung von Natriumpikrat hinzu, dadurch entstand ein Niederschlag, den ich sofort filtrierte und mit Wasser wusch. Das auf die obige Weise hergestellte Pikrat krystallisierte nach der Umkrystallisation aus heissem Wasser in feinen gelben Nadeln und war in kaltem Wasser schwer, in siedendem Alkohol oder Wasser leichter löslich. Die Ausbeute betrug 0.2427 g. Der

Zersetzungspunkt des so gewonnenen Produktes liegt bei  $280^{\circ}$ . Für die Analyse wurde es im Vacuum bei  $100^{\circ}$  getrocknet.

0.1134 g Substanz gab 0.03498 g N.

N.

$C_5H_5N_5C_6H_2(NO_2)_3OH$	Ber.	30.77 %
	Gef.	30.85 %

Aus dem beobachteten Zersetzungspunkt und dem angeführten Analysenwert geht mit Bestimmtheit hervor, dass das isolierte Pikrat nichts anderes ist als das Adeninpikrat.

Die Mutterlauge des Adeninpikrats wurde mit Schwefelsäure angesäuert, die Pikrinsäure mit Äther entfernt und ammoniakalische Silberlösung hinzugefügt. Dabei wurde ein Niederschlag ausgefällt. Darauf wurde die Flüssigkeit abfiltriert, der Rückstand in Wasser suspendiert, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und abfiltriert. Das Filtrat wurde eingedampft und der Rückstand in verdünnter Salpetersäure gelöst. Es schieden sich beim Erkalten wetzsteinförmige Krystalle aus. Diese waren in kaltem Wasser leicht löslich. Die Ausbeute betrug 0.0957 g. Für die Analyse wurde das gereinigte Präparat über Schwefelsäure im Vacuum getrocknet.

0.0873 g Substanz gab 0.02824 g N.

N.

$C_5H_4N_4O \cdot HNO_3 + H_2O$	Ber.	32.28 %
	Gef.	32.35 %

Aus dem obigen Analysenwert wurden die Krystalle als mit Hypoxanthin-nitrat vollständig identisch gefunden.

### Isolierung des Tyrosins und des Asparagins.

Das Filtrat vom Phosphowolframsäureniederschlag wurde, nach dem Entfernen der Schwefel- und Phosphowolframsäure durch Baryt und des Ueberschusses von Baryt durch Kohlensäure, im Vacuum eingengt. Es schied sich dabei das wohl bekannte Tyrosin aus. Aus heissem Wasser umkrystallisiert, bildeten sich seidenglänzende, büschelförmige Tyrosin Nadeln, die in Wasser sehr schwer löslich, in Alkohol und Aether fast unlöslich, dagegen

in Säuren und Alkalien leicht löslich waren. Die Ausbeute betrug 1.5 g. Die gewonnenen Kristalle gaben stark rote Färbung mit Millon'schem Reagens, schöne rote Färbung mit Diazobenzolsulfosäure in alkalischer Lösung und auch Piria'sche Reaktion mit einem Tropfen neutraler Eisenchloridlösung in warm konzentrierter Schwefelsäurelösung. Für die Analyse wurde es im Vacuum bei  $100^{\circ}$  getrocknet.

0.1037 g Substanz gab 0.0081 g N.

N.



Ber. 7.73 %

Gef. 7.81 %

Alle diese Eigenschaften und der Analysenwert stimmen mit dem Tyrosin überein.

Aus der Mutterlauge des Tyrosins wurde ein durchsichtiger, grosser, prismatischer Krystall ausgeschieden, nachdem dieselbe im Vacuum noch eingengt und kalt stehen gelassen worden war. Die Ausbeute betrug 1 g. Für die Analyse wurde das gewonnene Produkt über konzentrierter Schwefelsäure im Vacuum getrocknet.

0.1 g Substanz gab 0.0187 g N.

N.



Ber. 18.67 %

Gef. 18.70 %

Aus dem oben angegebenen Analysenwert ergab es sich deutlich, dass der isolierte Krystall Asparagin war.

### Zusammenfassung der Resultate.

Aus 30 kg frischer Sasaschösslinge wurden folgende Mengen Nicht-Eiweissstickstoffverbindungen gewonnen :

Xanthin	0.095 g
Hypoxanthin	0.060 g
Adenin	0.090 g
Guanin	0.031 g
Tyrosin	1.500 g

Asparagin

1.000 g

Zum Schluss wünsche ich diese Gelegenheit zu benützen, Herrn Prof. Dr. K. Oshima für seine Anregung zu dieser Arbeit, wie auch für seinen mir freundlichst gewährten Rat und Beistand meinen tiefempfundenen Dank auszudrücken.







# Ueber die chemische Beschaffenheit der Eischale von *Pollachius brandti*.

Von

**K. Miyake und T. Tadokoro.**



Ueber die chemische Beschaffenheit der Eischalen sind schon eine Reihe von Untersuchungen vorhanden. So berichten Velson<sup>1)</sup> und Tichomiroff<sup>2)</sup> von den Wirbellosen, dass die Eischale von *Bombyx mori* aus einem Keratinstoff besteht; Krukenberg<sup>3)</sup> untersuchte die Eikapseln einiger mariner Schnecken (*Murex trunkulus*, *Buccinum undatum*, *Purpura lapillus*) und stellte durch Behandlung mit verdünnter Salzsäure, Alkohol, Aether, Pepsin, Tripsin, starker Natronlauge und Wasser ein Albuminoid dar, welches in kalter konzentrierter Mineralsäure nicht, in konzentrierter Kalilauge nur schwer löslich war, und hat gefunden, dass beim Erhitzen mit Wasser auf 170° unter Druck, sich albumo-eartige Produkte bilden. Bei den Wirbeltieren sind bedeutend mehr Untersuchungen gemacht worden als bei den Wirbellosen. O. Hammersten und V. Lindwell<sup>4)</sup> stellten fest, dass die Eischalenhaut der Hühner aus einem typischen Keratin besteht, desgleichen W. Krukenberg<sup>5)</sup> von den Eiern von *Scyllium stellare*. Auch bei

---

1) Bolletino mensile die Bachioltura, No. 9, 1884. (Aus Neumeister: Physiologische Chemie, 2 Aufl. 1897.)

2) Hoppe-Seylers Zs. physiol. Chem., Strassburg, 9 (1885), p. 518-.

3) Ber. D. chem. Ges., Berlin, 18 (1885), p. 985-.

4) Jahresber. f. Tierchem., 11 (1881), p. 38-.

5) Vergleich. physiol. Studien, 2. Abt, 1 (1882), p. 66-.

anderen Selachiern sind die Eischalen keratinöser Natur, so bei *Raja quadrimaculata*<sup>1)</sup>, bei *Miliobatis aquila*<sup>2)</sup> und bei *Pristis melonostomus*<sup>3)</sup>. Dasselbe ist nach R. Neumeister<sup>4)</sup> der Fall bei *Calotis jubatus*, *Ptychozoon bonocolocephalus*, sowie bei *Crocodylus biprocalus*. Dagegen weicht nach R. Neumeister<sup>5)</sup> die Eischale eines Kleakentieres, nämlich der *Echidna aculeata*, in ihrem Verhalten insofern von den echten Keratinen ab, als sie vom Magensaft verdaut wird. Auch Krukenberg<sup>6)</sup> fand die Eischalen von *Tropidonotus natrix* und *Musterus laevis* in kalter Natronlauge unlöslich, dagegen verdauulich durch Pepsin und Tripsin. Deutliche Altersunterschiede haben sich bei der Untersuchung der Eihüllen von *Coluber natrix* geltend gemacht. Hilger<sup>7)</sup> fand dieselben in kalten, konzentrierten Kalilösungen, ebenso in Säuren unlöslich und ausserdem schwefelfrei. Er fand, dass die Zusammensetzung der Substanz echtes Elastin ist. Vor kurzem untersuchten auch Pregel<sup>8)</sup> und Buchtala<sup>9)</sup> die Beschaffenheit, sowie die Hydrolysenprodukte der Eihäute der Selachier und fanden, dass sie gleich dem Keratin aus schwefelarmem Albuminoid bestehen und bei der Hydrolyse merkwürdig hohen Tyrosingehalt aufweisen. Dagegen ergaben die Untersuchungen von Abderhalden und Straus,<sup>9)</sup> dass bei einer Totalhydrolyse der Eihülle von *Testudo giracea* das Tyrosin fehlt.

Wie schon oben erwähnt wurde, wechselt die Beschaffenheit der Eischale bei den verschiedenen Spezies der Tiere. Doch besteht die Schalenhaut meistens aus Keratin oder schwefelarmem Albuminoid. Einige Eihäute nähern sich in ihren Eigenschaften dem Elastin.

In folgendem veröffentlichen wir die Untersuchungsergebnisse über die Beschaffenheit und die Abbauprodukte der Eischale von *Pollachius brandii*

1) L. Schenk: Sitzungsber. d. Wiesner Akad., 681 (1874), p. 363-.

2) W. Krukenberg: Vergleich. d. Physiol. Studien. 2. Abt., 1 (1882), p. 62-.

3) R. Neumeister: Jahrbuch. d. Physiol. Chem., Jena, 1897, p. 530-.

4) „ Zs. f. Biol. N. F. 8 (1899), p. 57 u. 13 (1895), p. 413-.

5) Vergleich Physiol. Chem. Studien. 2. Abt., 1 (1882), p. 91-.

6) Ber. D. chem. Ges., Berlin, 6 (1873), p. 165-.

7) Hoppe-Seyler's Zs. physiol. Chem., Strassburg, 56 (1908), p. 1-.

8) *ibid.*, 56 (1908), p. 11-.

9) *ibid.*, 48 (1906), p. 525-.

Hilgd., welcher in Japan als Nahrungsmittel viel benützt wird. Wir sind zum Schluss gekommen, dass die Substanz der angegebenen Eischale aus einem schwefelarmen keratinartigen Stoffe besteht, und dass der Gehalt an Monoaminosäuren im Abbauprodukte sehr bedeutend ist.

### Vorbereitung des Materials und dessen Bestandteile.

Um die Schalen für die Analyse zu bekommen, wurden die Eier zuerst vom Eiersack genommen, dann in Wasser gewaschen, hierauf von dem anhaftenden Schleim mechanisch gereinigt. Dann wurden die Eier in einem Mörser zerrieben und der Inhalt unter den offenen Wasserhahn gebracht, um die Schalen von den flüssigen Bestandteilen zu trennen. Die so erhaltenen Eierschalen wurden zum Quellen in einprozentige Salzsäure gelegt und mehrere Tage darin gelassen, hierauf noch einmal von den anhaftenden Verunreinigungen befreit und in Wasser gewaschen, bis das Filtrat keine Millon'sche Reaktion mehr gab. Nachdem die Eihäute an der Luft trocken geworden, erfolgte eine Extraktion mit Alkohol und darauf eine mit Aether. Nach völligem Trocknen an der Luft bis zum konstanten Gewicht hatten diese Eihäute noch einen Wassergehalt von 7.59% und einem Aschengehalt von 0.17%.

Es verloren 0.3510 gr beim Trocknen bei 110° im Vakuum 0.0250 gr H<sub>2</sub>O und hinterliessen beim Veraschen 0.0006 gr Asche.

Die bei 110° im Vakuum getrockneten Eihäute gaben bei der Elementalanalyse folgende Werte:

0.1 gr Substanz gab bei der Verbrennung	0.1879 gr CO <sub>2</sub> , 0.0757 gr H <sub>2</sub> O.
	C. ....51.24%
	H. ....8.41%
0.2 gr Substanz gab nach Kjeldahl	0.02914 gr N.
	N. ....14.57%
1.0 gr Substanz gab nach dem Schmelzen mit KNO <sub>3</sub> und Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.0487 gr BaSO <sub>4</sub>
	S. ....0.67%

Zum Vergleiche seien hier auch noch die Analysen von der Schalenhaut des Hühnereies, *Scyllium stellare*, *Scyllium canicula*, *Pristiurus melanostomis*, *Scyllium catulus* und *Coluber natrix* beigegeben.

Schalenhaut	C	H	N	S	O	Autor
des Hühnereies	49.78	6.68	16.43	4.25	22.90	Lindwell <sup>1)</sup>
des <i>Scyllium stellare</i>	53.92	7.33	15.08	1.44	22.23	Buchtala <sup>1)</sup>
des <i>Scyllium canicula</i>	53.64	6.49	14.23	1.33	22.31	„
des <i>Pristiurus melanostomis</i>	51.45	6.61	14.33	1.52	26.09	„
des <i>Scyllium catulus</i>	51.50	6.51	15.34	0.88	25.77	Krukenberg <sup>2)</sup>
des <i>Coluber natrix</i>	54.68	7.24	16.37	angeblich S. frei	.....	Hilger <sup>3)</sup>
des <i>Pollachius brandti</i>	51.24	8.41	14.57	0.67	25.11	Miyake Tadokoro

Die obige Tafel zeigt deutlich, dass die Zusammensetzung der Hautsubstanz der Eier von *Pollachius brandti* und der Selachiereier ungefähr gleich ist, speziell der Eier von *Scyllium catulus*.

## Löslichkeitsverhältnisse und allgemeine

### Eiweisskörper-reaktionen.

Die Substanz der Eihäute von *Pollachius brandti* ist in gewöhnlichen Lösungsmitteln, wie Wasser, Alkohol und Aether usw., auch in der Wärme unlöslich. In verdünnten Mineralsäuren lösen sie sich beim Erwärmen. In Pepsinsalzsäure, sowie in alkalischer Pankreatinlösung erleiden die Eihäute keine sichtbare Veränderung. Behandelt man die Eihäute mit Salpetersäure und macht sie dann mit Ammoniak alkalisch, so tritt typische Xanthoproteinreaktion auf. Hingegen nehmen beim Kochen der Eihäute mit konzentrierter Salzsäure weder die Flüssigkeit, noch die Eihäute eine für die Liebermann'sche Reaktion charakteristische Färbung an. Die Millon'sche und die bleischwärende Schwefelreaktion fällt positiv, aber die Molische Reaktion negativ aus. Nach halbstündigem Kochen mit 5% Kalilauge werden die Eihäute zu einer gallertartigen Masse modifiziert. Nach längerer Digestion

1) Buchtala:— l. c.

2) Ber. D. chem. Ges., Berlin, 18 (1885), p. 989—.

3) *ibid.*, 6 (1873), p. 165—.

derselben mit 5% Kalilauge in der Temperatur des Wasserbades, ebenso mit 30% Kalilauge in der Kälte erfolgt vollständige Lösung. Diese Lösung zeigt auch die Biuretreaktion, die Millon'sche-, die Xanthoprotein-, und die bleischwärende Schwefelreaktion.

Aus den obigen Resultaten erfolgt, dass die Substanz der Eilhäute von *Pollachius brandti* ein keratinähnlicher Stoff ist, wie die Hautsubstanz der Selachiereier.

### Verteilung des Stickstoffes.

Hierbei wurde die Methode von Hausmann<sup>1)</sup> unter Berücksichtigung der Erfahrungen Günbels<sup>2)</sup> angewendet. Es wurden je 4 gr der luftgetrockneten Substanz mit 80 gr konzentrierter Salzsäure am Rückflusskühler sechs Stunden lang gekocht. Nach Entfernung der Salzsäure wurde das Ammoniak durch Magnesiumoxyd in Freiheit gesetzt. a) Der Rückstand wurde in Salzsäure gelöst und in einem Messkolben von 500 ccm Inhalt filtriert. Der auf dem Filter zurückbleibende Niederschlag diente zur Bestimmung des Melaninstickstoffes. b) Von dem mit Wasser auf 500 ccm ergänzten Filtrate dienten zweimal je 25 ccm zur Bestimmung des Stickstoffes der Mono- und Diaminosäuren. c) Zum Zwecke der Bestimmung des Stickstoffes in den getrennten Mono- und Diaminosäuren wurden zweimal je 100 ccm des Filtrats gebraucht. Die Filtrate von den Phosphowolframsäureniederschlägen wurden für die Bestimmung des Stickstoffes in den Monoaminosäuren d), die Niederschläge selbst für die Stickstoffbestimmung in den Diaminosäuren e) verwendet.

Die Resultate waren folgende:

	In der wasserfreien Substanz	Im gesamten Stickstoff
Gesamtgehalt an Stickstoff	14.57%	100.00%
Ammoniakstickstoff a)	0.87%	5.97%
Melaninstickstoff b)	0.14%	0.96%

1) Hoppe-Seyler Zs. physiol. Chem., Strassburg, 27 (1899), p. 95- u. 29 (1900), p. 146-.

2) Hofmeisters Beiträge., 5, p. 297-.

Mono- u. Diaminostickstoff c)	13.56%	93.07%
Monoaminostickstoff d)	11.40%	78.24%
Diaminostickstoff e)	2.16%	14.83%

Zum Vergleiche mit diesen Resultaten seien hier auch noch die Analysen über *Scyllium stellare*, *Pristiurus melanostomis* und *Scyllium canicula* von H. Buchtala (l. c.) beigebracht.

	Ammoniak-N.	Melanin-N.	Monoamino-N.	Diamino-N.
<i>Scyllium stellare</i>	0.7 (5.09)	0.08(0.56)	10.96(79.66)	2.17(15.78)
<i>Pristiurus melanostomis</i>	0.75(5.13)	0.02(0.14)	9.70(66.45)	4.20(28.78)
<i>Scyllium canicula</i>	0.64(4.49)	0.04(0.24)	9.21(64.19)	4.41(30.75)
<i>Pollachius brandti</i>	0.87(5.97)	0.14(0.91)	11.40(78.24)	2.16(14.75)

Die nicht eingeklammerten Zahlen geben die Prozente des Stickstoffs bezogen auf die Substanz, die in Klammern stehenden bedeuten Prozente des Gesamtstickstoffs.

Beim Vergleiche der mitgeteilten Zahlen ergibt sich als hervorstechendste Eigentümlichkeit der Eihäute von *Pollachius brandti* der hohe Gehalt an Monoaminosäurenstickstoff und der niedere Gehalt an Diaminosäurenstickstoff.

### Die Abbauprodukte.

(1) Isolierung des Tyrosins, des Leucins und der Glutaminsäure.

25 gr gereinigte Eihäute wurden mit einem Gemisch von 60 cem konzentrierter Schwefelsäure und 250 cem Wasser zuerst so lange auf dem Wasserbade digestiert, bis vollständige Lösung eingetreten war und hierauf 16 Stunden am Rückflusskühler gekocht.

Die mit Wasser verdünnte Lösung wurde mit Calciumcarbonat neutralisiert und von dem entstandenen Calciumsulphatniederschlag abgenutscht. Dieser Niederschlag wurde wiederholt mit Wasser ausgekocht, bis der letzte Auszug keine Diazoreaktion mehr gab. Das Filtrat und das Waschwasser wurden vereinigt und auf ein kleines Volumen eingengt. Aus dieser Lösung schied sich die krystallisierende Masse, welche hauptsächlich aus den Nadelbüschen des Tyrosins und des Leucins besteht, aus. Diese Masse wurde auf einen Filter gestellt und mit Alkohol und Aether gewaschen. Zur Trennung

des Leucins und Tyrosins wurde kochende Essigsäurelösung angewendet.

Beide Gewichte betrugen nach dem Trocknen wie folgt:

Tyrosin 0.1315 gr entsprechend 0.53% der trockenen Eihäute.

0.1 gr Tyrosin gab 0.2171 gr  $\text{CO}_2$  und 0.0551 gr  $\text{H}_2\text{O}$ .

Berechnet für  $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$ : Gefunden:

59.66% C 6.07% H: 59.22% C 6.17% H.

Leucin 0.69 gr entsprechend 2.4% der trockenen Eihäute.

0.1 gr Leucin gab 0.2004 gr  $\text{CO}_2$  und 0.0870 gr  $\text{H}_2\text{O}$ .

Berechnet für  $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$ : Gefunden:

54.96% C 9.92% H: 54.65% C 9.67% H.

Aus dem Filtrat von Tyrosin und Leucin schieden sich, nachdem trockenes Chlorwasserstoffgas eingeleitet worden war, die Krystalle des Glutaminsäurechlorohydrates aus. Nach Ausrystallisation betrug die Ausbeute des getrockneten Glutaminsäurechlorhydrats 0.4375 gr entsprechend 1.75% der trockenen Eihäute.

0.1 gr Glutaminsäurechlorohydrat gab 0.1195 gr  $\text{CO}_2$  0.0490 gr  $\text{H}_2\text{O}$ .

„ „ „ „ 0.0194 „ Cl.

Berechnet für  $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4\text{HCl}$ : Gefunden:

32.69% C 5.45% H 19.35 Cl: 32.59% C 5.47% H 19.40% Cl.

## (2) Isolierung der Hexonbasen.

20 gr gereinigte Eihäute wurden mit 60 cem konzentrierter Salzsäure gemischt und hierauf 8 Stunden lang am Rückflusskühler gekocht. Die dreimal mit Wasser verdünnte Lösung wurde filtriert und gewaschen. Das Filtrat und das Waschwasser wurden vereinigt, hierauf mit soviel Schwefelsäure versetzt, dass die Konzentration 5% Schwefelsäure betrug. Daraus wurden die Diaminosäuren als Phosphowolframate gefällt. Der Phosphowolframniederschlag wurde nach 24 stündigem Stehen abgenuzt und mit 5% Schwefelsäure gewaschen. Hierauf wurde der Niederschlag mit überschüssigem Baryt völlig zerlegt und 24 Stunden lang sich selbst überlassen. Nach dem Absaugen wurde das überschüssige Baryt durch Einleiten von Kohlensäure entfernt. Die filtrierte, schwach gelblich gefärbte Flüssigkeit wurde zwecks Vertreibung des Ammoniaks auf dem Wasserbade eingedampft. Nun



wurde sie mit Kohlensäure gesättigt und mit einer genügenden Menge von Quecksilbernitrat versetzt und dann 24 Stunden lang stehen gelassen. Der entstandene Niederschlag wurde abgenutscht und mit Wasser gewaschen. Hierauf wurde derselbe in wenig Wasser verteilt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Die dabei entstandene Schwefelquecksilberfällung wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das Filtrat wurde beim Eindampfen im Vakuum zu Syrup verdickt und blieb mehrere Stunden lang stehen. Die Krystalle schieden sich ab und wurden dann abfiltriert. Sie gaben keine genügende Menge zur Wägung, zeigten aber Weidels Pyrimidin-reaktion und die Reaktion mit Diazobenzolsulfosäure unter Bildung eines Farbstoffes, der in säurer Lösung rein orange, in alkalischer dunkel kirschrot gefärbt war. Gestützt auf obige Reaktionen will es deutlich erscheinen, dass die ausgeschiedenen Krystalle aus Histidinchlorohydrat bestanden.

Die Mutterlauge der Histidinequecksilberfällung wurde mit Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit. Die so gewonnene Flüssigkeit wurde zur Entfernung des Schwefelwasserstoffs im Vakuum eingedampft und dann mit Silbernitrat von der Salzsäure befreit. Das Filtrat wurde mit einem Ueberschuss von Silbernitrat und Baryt versetzt, wobei ein Niederschlag entstand und dann mit Hülfe der Saugpumpe abgesaugt. Der Niederschlag wurde in schwefelsäurehaltigem Wasser verteilt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt und dann abfiltriert. Nach Neutralisation mit Salpetersäure wurde das Filtrat im Vakuum eingeeengt und blieb mehrere Stunden lang stehen. Die Krystalle schieden sich dabei ab, worauf sie abfiltriert wurden.

Die so gewonnenen Krystalle bestanden aus feinen, zu Gruppen vereinigten Nadeln. Deren wässrige Lösung wurde durch Phosphowolframsäure, Phosphomolybdänsäure und Nessler's Reagens gefällt und nach dem Trocknen über Schwefelsäure im Vakuum gewogen und analysiert. Die Ausbeute betrug 0.5450 gr entsprechend 2.74% der trockenen Eihäute.

0.1 gr Substanz gab 0.0982 gr  $\text{CO}_2$ , 0.0471 gr  $\text{H}_2\text{O}$ .

Berechnet für  $\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{N}_8$ ,  $3\text{H}_2\text{O}$ :                      Gefunden:

27.74% C    5.58% H:    26.87% C    5.27% H.

Nach den hier angegebenen Daten war es deutlich, dass die isolierten Krystalle Arginininitrat waren.



Das Filtrat vom Arguinsilberniederschlag wurde nach dem Entfernen des Silbers durch Salzsäure und des Ueberschusses von Baryt durch Schwefelsäure eingeeengt, mit Schwefelsäure versetzt, bis der Gehalt davon ungefähr 5% betrug und mit Phosphowolframsäure ausgefällt. Der Niederschlag wurde mit 5% Schwefelsäure ausgewaschen und mit Baryt zerlegt. Die unlöslichen Baryumsalze wurden abfiltriert und das Filtrat nach dem Entfernen des Ueberschusses von Baryt durch Kohlensäure fast zur Trockene eingedampft, mit Wasser aufgenommen und abfiltriert. Dieses Filtrat wurde mit einer geringen Menge alkoholischer Pikrinsäure unter Zusatz von Alkohol angerührt. Dabei entstand das Pikrat. Das Pikrat wurde auf dem Filter gesammelt und aus heissem Wasser umkristallisiert. Die Ausbeute betrug 1.234 gr entsprechend 6.17% der trockenen Eihäute. Für die Analyse wurde das gereinigte Präparat im Vakuum bei 100° getrocknet.

0.1 gr Substanz gab 0.1214 gr CO<sub>2</sub>, 0.0316 gr H<sub>2</sub>O.

Berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> (3C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>): Gefunden:

37.46% C, 3.64% H: 37.10% C, 3.53% H.

Aus dem obigen Analysenwert wurde das Pikrat als mit Lysinpikrat vollständig identisch gefunden.

### (3) Zusammenfassung des Ergebnisses.

Die Mengeverhältnisse der isolierten Aminosäuren ergeben sich aus der folgenden Zusammenstellung.

Leucin.....	2.40%
Tyrosin.....	1.53%
Glutaminsäure.....	1.40%
Histidin.....	Vorhanden.
Arginin.....	2.30%
Lysin.....	1.75%

Am Schluss möchten wir nicht verfehlen, Herrn Professor K. Oshima unseren herzlichsten Dank für seine stete liebenswürdige Unterstützung auszudrücken.



This Journal is on sale at  
MARUYA & Co. Ltd.

*Tori Sancho, Nihonbashi, Tokyo.*

明治四十四年十二月廿二日印刷

明治四十四年十二月廿五日發行

編纂兼發行者

東北帝國大學農科大學

印刷者

札幌區北一條西三丁目二番地

山中 松

印刷所

札幌區北一條西三丁目二番地

文榮堂活版所

賣捌所

東京市日本橋區通三丁目十四番地

丸善株式會社書店

## CONTENTS OF VOLUME IV.

---

I. Erster Beitrag zur Insekten-Fauna von Sachalin.	
Von S. Matsumura.....	1
II. Studies on the Anatomy and Physiology of the Silk-Producing Insects.	
1. On the Structure of the Silk Glands and the Silk Formation in Bombyx Mori. By Y. Tanaka.....	145
III. Cytological Studies on the Nuclear Division of the Pollen Mother-Cells of some Cereals and their Hybrids. By M. Nakao.....	173
IV. Untersuchungen über die Schädel der Japanischen Boviden.	
Von K. Iguchi. ....	191
V. Untersuchungen über die Pilze auf dem getrockneten Boniten oder Katsubushi. Von J. Hanzawa.....	215
VI.	
1. On the Carbohydrate Group in Yam Mucin.	
By K. Oshima and T. Tadokoro. ....	243
2. On the Carbohydrates of the Shoots of Sasa paniculata.	
By K. Miyake und T. Tadokoro. ....	251
3. Ueber die Nicht-Eiweiss-Stickstoff Bestandteile der Schösslinge von Sasa paniculata. Von K. Miyake.....	261
4. Ueber die chemische Beschaffenheit der Eischale von Pollachius brandti. Von K. Miyake und T. Tadokoro.....	269





